



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation⁶ : A61K 39/00, 39/385</p>	A2	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/26910</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 31. Juli 1997 (31.07.97)</p>		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 55%; vertical-align: top;"><p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/00172</p><p>(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)</p><p>(30) Prioritätsdaten: 196 02 985.6 27. Januar 1996 (27.01.96) DE 196 04 380.8 7. Februar 1996 (07.02.96) DE</p><p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p><p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).</p><p>(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p></td><td style="width: 45%; vertical-align: top;"><p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p><p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p></td></tr></table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/00172</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 02 985.6 27. Januar 1996 (27.01.96) DE 196 04 380.8 7. Februar 1996 (07.02.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).</p> <p>(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/00172</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 02 985.6 27. Januar 1996 (27.01.96) DE 196 04 380.8 7. Februar 1996 (07.02.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).</p> <p>(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>			
<p>(54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS</p> <p>(54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns a tumour vaccine in which the immunogenicity of tumour cells, tumour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, <i>Escherichia coli</i> or from <i>Chlamydia trachomatis</i>.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, <i>Escherichia coli</i> oder aus <i>Chlamydia trachomatis</i> erhalten werden.</p>				

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von malignen Tumoren

Beschreibung

- 5 Die Erfindung betrifft die Herstellung eines Impfstoffes aus gentechnisch modifizierten Tumorzellen beziehungsweise aus biochemisch isolierten tumorassoziierten Antigenen oder synthetisch hergestellten antigenen Teilstrukturen für die Immuntherapie von malignen Tumoren. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeuti-
- 10 sche Industrie.

Die grundlegende Therapie solider maligner Tumoren ist die chirurgische oder strahlentherapeutische Entfernung

15 des Primärtumors. Bei systemischen Formen der Krebserkrankung oder chirurgisch nicht erreichbaren Tumormetastasen führt man eine Chemotherapie durch oder versucht eine biologische Therapie. Theoretisch gesehen ist die Erzeugung einer gegen Krebszellen gerichteten Immunantwort, die zur Zerstörung der Krebszellen führt, das gesunde Gewebe aber nicht behelligt, die optimale Methode, um Tumormetastasen zu bekämpfen. Daß es prinzipiell möglich ist, eine gegen Krebszellen gerichtete Immunantwort zu erzeugen, wird durch Ergebnisse von Impfversuchen mit

20 tierexperimentellen Tumoren sowie auch mit einigen Tumoren des Menschen belegt.

Es sind jedoch noch Hemmnisse zu überwinden, ehe diese Form der aktiven spezifischen Immunisierung zur Therapie

30 von Krebserkrankungen eine breitere klinische Anwendung finden kann. Eines der größten Hemmnisse ist die geringe Immunogenität spontan entstandener Tumoren. Unstrittig ist, daß die meisten Tumoren, auch diejenigen des Menschen, tumorassoziierte Antigene besitzen, durch die sie sich vom gesunden Gewebe unterscheiden. Da Tumoren jedoch körpereigenes Gewebe darstellen, registriert das Immunsystem lediglich die Existenz tumorassoziiierter Antigene auf den malignen Zellen, ist aber von sich aus nicht in

35

der Lage, eine wirksame Abwehrreaktion gegen die nativen Tumorzellen zustandezubringen.

Um eine wirksame immunologische Abwehrreaktion gegen maligne Tumoren hervorzurufen, ist es unerlässlich, die Immunogenität derjenigen Tumorzellen oder tumorassoziierten Antigene mit denen man eine Impfung vornehmen will, künstlich zu verstärken. Bei Tumorzellimpfstoffen kann dieses dadurch geschehen, daß man die Tumorzellen chemisch, enzymatisch oder durch Hinzufügen apathogener Viren bzw. abgeschwächter Tuberkelbakterien (BCG) äußerlich modifiziert oder gentechnisch durch Übertragung z.B. eines Zytokingens verändert (Specific Immunotherapy of Cancer with Vaccines, eds. Bystryn et al., Ann NY Acad Sci 690 (1993); Pardoll, Curr Opin Immunol 4, 619-623 (1992)). Subzelluläre, lösliche tumorassoziierte Antigene, z.B. Proteine oder Peptide mit entsprechenden immundominanten Epitopen aus Melanomzellen (van der Bruggen et al., Science 254, 1643-1647 (1991), Adenokarzinomen (Taylor-Papadimitriou et al., Ann NY Acad Sci 690, 69-79 (1993)) oder anderen Tumoren (Slingluff et al., Curr Opin Immunol 6, 733-740 (1994)) müssen an ein immunogenes Trägermolekül gebunden werden, um ihre schwache Immunogenität zu verstärken bzw. sie überhaupt immunogen zu machen. Peptide ohne Trägermolekül wirken in der Regel lediglich als Hapten, d.h. sie reagieren zwar mit einem entsprechenden peptidspezifischen Antikörper, können aber selbst keine Immunantwort hervorrufen. Als Trägermolekül werden bestimmte Serumproteine oder bakterielle Toxoide verwendet. Vor der Impfung wird dem Konjugat aus Peptid und Trägermolekül üblicherweise ein Adjuvans zugefügt, wodurch die Immunantwort nochmals verstärkt wird.

Prinzipiell wird die Immunantwort erkennbar an Hand der Bildung antigenspezifischer Antikörper und/oder T-Lymphozyten. Wie Ergebnisse von tierexperimentellen Untersuchungen und in-vitro-Tests mit humanen Tumorzellen zeigen, kommt es bei der Erzeugung einer therapeutisch

wirksamen Immunantwort gegen Krebszellen in erster Linie auf eine durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität an und weniger auf die Bildung von Antikörpern (Hellström and Hellström, Ann NY Acad Sci 690, 24-33 (1993)). Allerdings existieren bisher keine klaren Vorstellungen darüber, wie man bei einer Impfung von Tumorpatienten mit tumorassozierten Antigenen oder kurzkettigen Peptiden verfahren muß, um vor allem die Bildung tumorantigenspezifischer T-Lymphozyten hervorzurufen (Time of Truth for Cancer Vaccines, J Natl Cancer Inst 86, 330-331 (1994)).

Das Ziel der vorliegenden Erfindung war es deshalb, einen Tumorigenimpfstoff bereitzustellen, der es gestattet, sowohl Tumorzellen als auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen für eine wirksame Abwehrreaktion gegen native Tumorzellen einzusetzen. Die Aufgabe der Erfindung bestand dabei darin, die Immunogenität von als Impfstoff verwendeten Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung der Tumorzellen beziehungsweise durch biochemische Modifizierung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam zu verstärken und dabei insbesondere die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

Überraschend konnte diese Aufgabe durch gentechnische Modifizierung von Tumorzellen, die erfindungsgemäß zusätzlich das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten oder durch Bindung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gelöst werden.

Der erfindungsgemäße Tumorigenimpfstoff enthält Tumorzellen, die das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten beziehungsweise tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen, die an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

- Bevorzugt wird ein mikrobielles Hitzeschockprotein beziehungsweise sein Gen verwendet. Besonders bevorzugt sind das Gen von Hitzeschockproteinen beziehungsweise Hitzeschockproteine aus Mycobakterien, *Escherichia coli* und aus *Chlamydia trachomatis*, insbesondere sind es die Hitzeschockproteine HSP65 und HSP70 aus Mycobakterien, HSP70 aus *Escherichia coli* (DnaK) sowie HSP60 und HSP70 aus *Chlamydia trachomatis*.
- 10 Zur Herstellung des Tumorimpfstoffes eignen sich autologe Tumorzellen, die mit Hilfe mechanischer oder enzymatischer Methoden aus chirurgisch entferntem Tumorgewebe isoliert werden. Tumorzelllinien, die von allogenen Tumoren gleicher Histologie stammen, können ebenfalls verwendet werden, ein Beispiel dafür sind Zellen einer Colonkarzinomlinie, wie z.B. die Linien LS174T oder LOVO. Der Impfstoff wird postoperativ verabfolgt, vor der Applikation werden die Tumorzellen durch radioaktive Bestrahlung devitalisiert.
- 20 Infolge der Bereitstellung dieses erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffes durch Einschleusen des Gens eines exogenen Hitzeschockproteins und dessen Expression werden die Tumorzellen nachhaltig verfremdet und damit stärker immunogen. Das Gen des Hitzeschockproteins wird z.B. in den
- 25 Vektor pcDNA3 (Invitrogen Corp.) insertiert. Die Einschleusung und Expression des Gens eines Hitzeschockproteins erfolgt nach an sich bekannten Methoden, wie z.B. durch Transfektion mit dem liposomalen Reagenz DOTAP (Boehringer Mannheim GmbH) nach Felgner et al. Proc Natl Acad Sci USA 84 (1987), 7413-7417, Li et al. Biochemica, 30-31 (1995).

Danach können Tumorimpfstoffe für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom hergestellt werden.

- 35 Gemäß der Erfindung werden auch biochemisch isolierte tumorassoziierte Antigene und synthetisch hergestellte an-

tigene Teilstrukturen verwendet. Ein tumorassoziiertes Antigen ist beispielsweise das Carcinoembryonale Antigen. Als synthetisch hergestellte antigene Teilstrukturen werden gemäß der Erfindung synthetisch hergestellte Mucinpeptide, insbesondere Monomere und Oligomere der Mucinpeptide MUC1 und MUC2 eingesetzt.

Der Tumorimpfstoff wird nach an sich üblichen Methoden unter sterilen Kautelen hergestellt, in dem das Hitzeschockprotein chemisch an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

Mit dem erfindungsgemäßen Tumorimpfstoff wird eine neuartige Strategie verfolgt. Durch die gentechnische Modifizierung von Tumorzellen mit dem Gen eines Hitzeschockproteins beziehungsweise durch die Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein wird überraschend die Immunogenität von Tumorzellen und von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam verstärkt, d.h. es wird dadurch erstmalig möglich, auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen gezielt einzusetzen und dadurch die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

Die erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffe werden für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom oder malignem Melanom verwendet und vorzugsweise postoperativ verabfolgt.

Patentansprüche

1. Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von Tumoren enthaltend Tumorzellen, tumorassoziierte Antigene oder
5 antigene Teilstrukturen, wobei die Tumorzellen das Gen eines exogenen Hitzschockproteins enthalten, und die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.
- 10 2. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Tumorzellen devitalisierte autologe oder allogene Tumorzellen eingesetzt werden.
- 15 3. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen biochemisch isoliert oder synthetisch hergestellt werden.
- 20 4. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß als tumorassoziierte Antigene oder antigenen Teilstrukturen synthetisch hergestellte Mucinpeptide verwendet werden.
- 25 5. Tumorimpfstoff nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß synthetisch hergestellte Monomere oder Oligomere der Mucinpeptide MUC1 und MUC2 verwendet werden.
- 30 6. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß als tumorassoziiertes Antigen oder antigenen Teilstrukturen Carcinoembryonales Antigen oder antigenen Teilstrukturen des Carcinoembryonalen Antigens verwendet werden.
- 35

7. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet, daß
das exogene Hitzeschockprotein ein mikrobielles Hit-
zeschockprotein ist.
5
8. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Hitzeschockprotein das Protein HSP65 aus Mycobak-
terien ist.
10
9. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Mycobak-
terien ist.
15
10. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Escheri-
chia coli (DnaK) ist.
20
11. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Hitzeschockprotein das Protein HSP60 aus Chlamy-
dia trachomatis ist.
25
12. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Chlamy-
dia trachomatis ist.
30
13. Verwendung eines Tumorimpfstoffes nach einem der An-
sprüche 1 bis 12 zur Behandlung von Patienten mit
Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder ma-
lignem Lymphom.
35

14. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1,2 und 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß
5 man in Tumorzellen die cDNA des Gens eines Hitzeschockproteins einschleust und dort zur Expression bringt.
15. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffs für die Immuntherapie nach den Ansprüchen 1 und 3 bis 12,
10 dadurch gekennzeichnet, daß
das Hitzeschockprotein an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 39/00, 39/385	A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/26910 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 31. Juli 1997 (31.07.97)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/00172 (22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97) (30) Prioritätsdaten: 196 02 985.6 27. Januar 1996 (27.01.96) DE 196 04 380.8 7. Februar 1996 (07.02.96) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE). (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 2. Oktober 1997 (02.10.97)	
(54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS (54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN (57) Abstract <p>The invention concerns a tumour vaccine in which the immunogenicity of tumour cells, tumour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, <i>Escherichia coli</i> or from <i>Chlamydia trachomatis</i>.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, <i>Escherichia coli</i> oder aus <i>Chlamydia trachomatis</i> erhalten werden.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internu: Application No

PCT/DE 97/00172

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 A61K39/00 A61K39/385

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNCIL ;COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LOWRIE DOUGLAS () 26 May 1994 see page 1, line 28 - page 12, line 3 ---	1
X	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, January 1996, CAMBRIDGE GB, pages 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS:APPLICATIONS IN HEALTH AND DISEASE" see the whole document --- -/--	1

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 August 1997

Date of mailing of the international search report

25. 08. 97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/DE 97/00172

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 14, November 1993, pages 352-356, XP002037576 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" see the whole document ---	1
X	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, vol. 6, December 1995, pages 349-355, XP002037577 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN TUMORS" see the whole document ---	1
X	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, vol. 6, 1994, LONDON GB, pages 728-732, XP002037578 PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER IMMUNOTHERAPY" see the whole document ---	1
X,P	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 64, no. 7, July 1996, WASHINGTON US, pages 2400-2407, XP002037579 CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" see the whole document ---	1
X,P	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, vol. 60, August 1996, pages 153-158, XP002037580 MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN VACCINES" see the whole document ---	1
X,P	EUR. J. IMMUNOL., vol. 26, November 1996, pages 2559-2564, XP002037581 TAMAS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL CANCER VACCINES" see the whole document -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 97/00172

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although claim 13 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out, based on the alleged effects of the compound or composition.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees. ...

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat. Application No

PCT/DE 97/00172

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9411513 A	26-05-94	AU 5430794 A	08-06-94
		CA 2149309 A	26-05-94
		EP 0670899 A	13-09-95
		JP 8503132 T	09-04-96

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen

PCT/DE 97/00172

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K39/00 A61K39/385

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNCIL ;COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LOWRIE DOUGLAS () 26.Mai 1994 siehe Seite 1, Zeile 28 - Seite 12, Zeile 3 ---	1
X	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, Bd. 14, Januar 1996, CAMBRIDGE GB, Seiten 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS:APPLICATIONS IN HEALTH AND DISEASE" siehe das ganze Dokument --- -/-	1

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- * "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- * "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- * "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- * "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- * "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

* "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

* "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

* "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. August 1997

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

25. 08. 97

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Rempp, G

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, Bd. 14, November 1993, Seiten 352-356, XP002037576 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" siehe das ganze Dokument ---	1
X	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, Bd. 6, Dezember 1995, Seiten 349-355, XP002037577 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN TUMORS" siehe das ganze Dokument ---	1
X	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, Bd. 6, 1994, LONDON GB, Seiten 728-732, XP002037578 PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER IMMUNOTHERAPY" siehe das ganze Dokument ---	1
X,P	INFECTION AND IMMUNITY, Bd. 64, Nr. 7, Juli 1996, WASHINGTON US, Seiten 2400-2407, XP002037579 CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" siehe das ganze Dokument ---	1
X,P	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, Bd. 60, August 1996, Seiten 153-158, XP002037580 MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN VACCINES" siehe das ganze Dokument ---	1
X,P	EUR. J. IMMUNOL., Bd. 26, November 1996, Seiten 2559-2564, XP002037581 TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL CANCER VACCINES" siehe das ganze Dokument -----	1

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. 13
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 13 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internes Aktenzeichen

PCT/DE 97/00172

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9411513 A	26-05-94	AU 5430794 A	08-06-94
		CA 2149309 A	26-05-94
		EP 0670899 A	13-09-95
		JP 8503132 T	09-04-96
